

**P. LEBRUN**  
**RAPPORT 2ème MISSION**  
**"LABO PORTABLE ELECTROPHORESE "**  
**CÔTE D'IVOIRE du 18.11.1991 au 13.12.1991**



*Institut de Recherches sur le Caoutchouc*

*Département du Centre de Coopération Internationale  
 en Recherche Agronomique pour le Développement (CIRAD)*

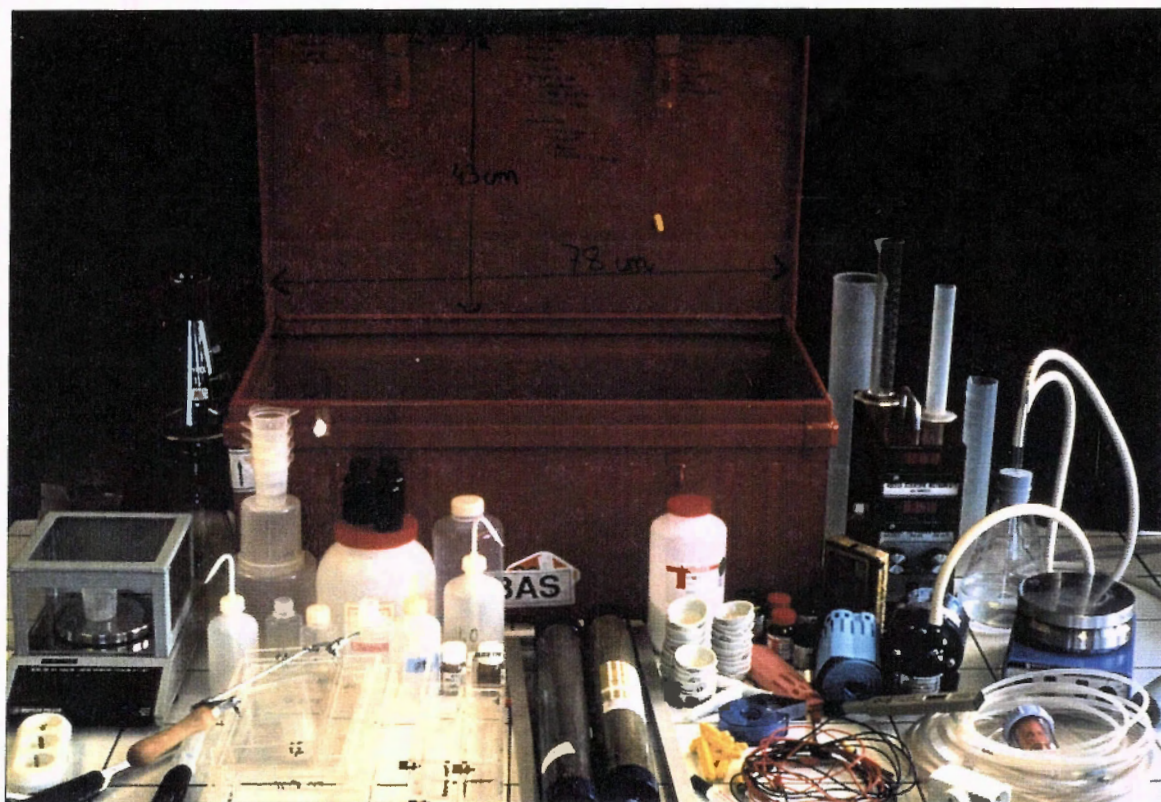
*42, rue Scheffer 75116 Paris (France) - Tél. (1) 47 04.32 15*

*Télécopie : (1) 47 27 33 66*

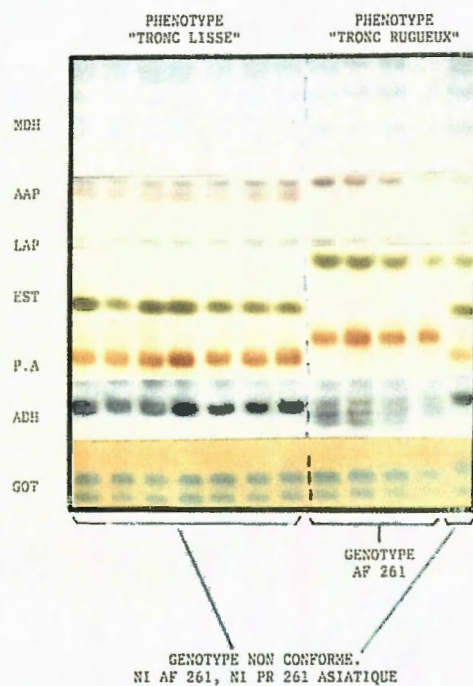
*Télex : 640975 Infranc Paris*



La réussite de cette mission repose très largement sur le bon accueil que m'a réservé le personnel de la SOGB et ainsi que toutes les familles d'expatriés. Je tiens à remercier plus particulièrement Frédérique LEFEBVRE pour son amabilité et sa disponibilité, ainsi que Claude BOET pour m'avoir reçu si gentiment à Grand Bereby.



**DETAILS DU LABORATOIRE PORTABLE D'ELECTROPHORESE**



**DETECTION DE "FAUX" GENOTYPES PR 261**

## **I. BUT DE LA MISSION**

Il s'agit de la deuxième mission prévue en Côte d'Ivoire en 1991, dans le cadre du projet IRCA de création d'une unité mobile d'électrophorèse d'isozymes (voir rapport de mission Côte d'Ivoire P. Lebrun du 06.03.1991 au 18.04.1991) dont le but est, rappelons le, de réaliser "in situ" des contrôles d'identité clonale chez l'*Hevea*.

La première mission, en avril 1991, s'étant déroulée sans problème sur la station IDEFOR, département plantes à latex de Bimbresso, la présente mission devait permettre de tester en conditions réelles, l'autonomie du "Labo portable", ce qui a été réalisé sur la plantation de la société d'économie mixte de Grand Bereby (SOGB), en Côte d'Ivoire.

## **II. DEROULEMENT**

### **A. Les jardins à bois ou JB**

La plantation de la société des Caoutchoucs de Grand Bereby (13500 ha) se trouve à l'Ouest du pays, près de la frontière Libérienne. La plantation dispose, entre autre, de jardins à bois de collection que l'on notera JB C, de jardins à bois de prémultiplication ou diffusion notés JB et de parcelles d'exploitation renfermant des arbres adultes.

Notre étude à portée plus particulièrement sur le JB C. Ce dernier se présente sous la forme de lignes parallèles, séparées par du *Pueraria*, chaque clone étant représenté par une, deux ou trois lignes d'environ 100 plants greffés.

Ce jardin à bois étant régulièrement recépé, il nous a presque toujours été possible de prélever de jeunes feuilles anthocyanées du premier ou du second étage foliaire. Ce qui nous a donné une très bonne qualité de manipulations.

Malheureusement, le débourrement n'étant pas synchrone, tous les clones d'*Hevea* n'ont pu être analysés et, en particulier IRCA 18 et PB 260.



## **B. Le laboratoire**

Les manipulations se déroulaient dans une pièce climatisée d'environ 25 m<sup>2</sup>, aménagée en laboratoire avec paillasse murales, multiples arrivées d'eau et d'électricité. Cette pièce contenait en outre, un réfrigérateur-congélateur. Toutes les conditions nécessaires au bon déroulement des manipulations étaient rassemblées.

## **C. Matériel végétal - Echantillonnage**

Les prélèvements ont été effectués sur deux types de matériel :

- En jardin à bois de collection sur des stumps recépés au premier ou deuxième étage foliaire.
- En parcelles d'exploitation, sur des arbres adultes, cassés par le vent, ayant émis des rejets près du sol.

Chaque individu a été repéré grâce à une étiquette plastique portant un numéro.

Différents niveaux d'échantillonnage ont été réalisés selon qu'il s'agissait :

- d'épurer complètement le jardin à bois de collection. Ce fût le cas pour le clone PR 261 où tous les individus ont été prélevés.
- de vérifier la pureté des clones. Dans ce cas un échantillon de 10 à 20 individus par clone a été prélevé.
- ou de s'assurer de l'identité d'un clone. Dans ce cas, ce sont 2 ou 3 individus par clone qui ont été analysés.

## **D. Problèmes techniques**

La première manipulation nous a permis d'apprécier le bon fonctionnement du "Labo portable". Son autonomie est complète et les manipulations qu'il permet de réaliser, de très bonne qualité. Cependant, quelques problèmes mineurs se sont manifestés.

Certains individus ne présentaient aucune activité enzymatique. Une augmentation de la concentration du tampon d'extraction induisant une plus grande pression osmotique nous a permis de mieux solubiliser les protéines, d'où une meilleure activité enzymatique.

Habituellement, un bloc de glace posé sur le gel, mais séparé de ce dernier par une plaque de verre, sert à réfrigérer la migration. Ne disposant pas de plaque de verre, les blocs de glace étaient en contact direct avec les gels, ce qui a provoqué leur congélation en surface. Pour résoudre ce problème, nous nous sommes passés de réfrigération et la qualité des manipulations n'en a pas été altérée.

Le substrat de l'enzyme PGI (phosphoglucose isomérase) s'étant dégradé au cours du transport par liquéfaction à la chaleur, nous n'avons pu révéler ce système enzymatique. Or la variabilité de la PGI chez les clones Wickham est très intéressante. C'est pourquoi, à l'avenir nous transporterons ce substrat dans un emballage isotherme.

Les conditions de travail nous ont conduit à modifier certains paramètres comme pour l'extraction qui se déroule maintenant à température ambiante (pièce climatisée), ou les révélations dont l'incubation se déroule en pièce non climatisée. Ces tests ont permis de simplifier quelques étapes et ont aussi prouvé la souplesse de la technique d'isozymes utilisée.

### III. RESULTATS

Les analyses ont porté sur 10 systèmes enzymatiques : MDH (malate déshydrogénase), AAP (alanine amino peptidase), LAP (leucine amino peptidase), EST (estérase), PA (phosphatase acide), ADH (alcool déshydrogénase), ICD (isocitrate déshydrogénase), PGM (phosphoglucose mutase), PGD (phosphoglucose déshydrogénase), GOT (glutamate oxaloacétate transaminase) et SK (shikimate déshydrogénase).

La révélation des PGD étant de mauvaise qualité, ce système n'a pas été pris en compte pour l'identification. Des problèmes de révélation des PGD sont apparus

également à Montpellier et ne sont pas imputables aux conditions du laboratoire portable.

Chaque clone d'*hevea* étudié a donc été analysé pour les neuf systèmes enzymatiques restants. Le génotype (composition allélique à 9 loci) correspondant à chaque individu a été établi, comparé à celui de nos témoins de référence répertoriés dans notre base de donnée enzymatique. Celle-ci renferme, entre autre, le génotype de 106 clones Wickham et 68 clones IRCA, provenant de la serre de Montpellier ou de l'IDEFOR, département plantes à latex et que nous avons pu comparer, dans certains cas, avec les clones provenant de Malaisie.

Au total, 274 individus différents ont été prélevés et analysés au moins une fois, en 19 jours de mission à la SOGB.

Un seul clone a fait l'objet d'une analyse systématique. Il s'agit du **PR 261**. Il faut savoir que ce clone a déjà été étudié en détail à l'IRCA et c'est ainsi que nous sommes rendu compte que le clone PR 261 de Bimbresso était différent du PR 261 de Malaisie. Leurs profils enzymatiques respectifs sont différents pour quatre systèmes. A la suite de cette étude, le clone possédé par l'IRCA et actuellement distribué en Afrique a été rebaptisé AF 261.

A la SOGB, dans les parcelles d'exploitation du PR 261, il est possible de distinguer deux "types" d'arbre : un phénotype "tronc rugueux" très répandu, produisant bien et un deuxième phénotype "tronc lisse" moins répandu que le premier, produisant plus à l'arbre, mais plus sensible à la casse au vent, ce qui, d'année en année, diminue sa production à l'hectare. Cette différence morphologique n'étant décelable que sur arbre adulte, il était intéressant de trouver des marqueurs enzymatiques confirmant l'origine génétique de cette différence phénotypique et fournissant des marqueurs précoces d'identification des mauvais génotypes à éliminer des jardins à bois.

La première étape de l'analyse a porté sur des *Hevea* adultes, cassés par le vent, ayant émis des rejets près du sol. Les individus prélevés ont été classés en deux groupes phénotypiques : tronc lisse et tronc rugueux constitués respectivement de 7 et 5 individus. Après électrophorèse, le premier groupe ("tronc lisse") s'est avéré

génétiqnement homogène. Cependant, le génotype de ce clone ne correspond à aucun des 109 clones Wickham identifiés par isozyme à ce jour. Par contre, le deuxième groupe ("tronc rugueux") présentait deux génotypes distincts. Le plus représenté (4 individus) est le génotype de l'AF 261, clone distribué par l'IDEFOR, département plantes à latex . Le cinquième individu, quant à lui, n'est pas un AF 261, pas plus qu'un PR 261. En résumé, dans les parcelles de PR 261 en exploitation, nous avons identifié trois génotypes différents dont l'un est l'AF 261. Il est à noter que le PR 261 de Malaisie n'est pas présent dans ces parcelles.

L'étape suivante a été l'analyse systématique des plants au bon stade de prélèvement du jardin à bois de collection. Nous avons ainsi analysé 81 individus : 77 individus représentent l'AF 261, 2 représentent le phénotype "tronc lisse" et 2 autres représentent le deuxième phénotype "tronc rugueux".

On peut donc remarquer que les trois génotypes identifiés en parcelles sont bien présents en JB C . Bien que le génotype de l'AF 261 reste majoritaire, il serait souhaitable d'éliminer les "faux" génotypes en ne conservant que les 77 souches certifiées conformes à l'AF 261.

Tous ces résultats sont consignés à la fin de ce document, dans un tableau récapitulatif, faisant état du numéro des individus identifiés dans le jardin à bois de collection.

Viennent ensuite les clones échantillonnés moins précisément. C'est le cas du PB 310, PB 254, GT1, IRCA 122, IRCA 209 et PB 280.

Pour le **PB 310**, 29 individus ont été prélevés dans le JB C. Ils présentaient tous le même profil électrophorétique, conforme à celui du PB 310 de l'IDEFOR, département plantes à latex .

Le **PB 254**, échantillonné à 21 individus, prouve aussi sa conformité par rapport au témoin de Bimbresso.



**GT1** : Les prélèvements ont été réalisés dans le JB C, dans un jardin à bois de diffusion et dans des parcelles en exploitation à raison de un individu par parcelle. Le JB de diffusion regroupe un grand nombre de souches, assez âgées, présentant un troisième ou un quatrième étage foliaire. Sur 19 individus prélevés dans ce jardin à bois, 10 n'ont présenté aucune activité enzymatique et 9 autres, souvent faibles, sont néanmoins conformes au GT1. Ce problème de manque d'activité ou de faible activité enzymatique nous a empêché, comme nous en avons l'intention, de mélanger à l'extraction deux individus différents, augmentant ainsi le nombre d'individus analysés. En effet, il nous aurait alors été impossible de déceler les individus ne présentant aucune activité enzymatique et nous aurions pu abusivement conclure à la conformité de tels individus.

Dans le jardin à bois de collection, les 6 individus prélevés ont fait preuve d'une bonne activité enzymatique et d'une entière conformité clonale. Quant aux individus prélevés sur *Hevea* adultes, leur conformité au GT1 ne fait aucun doute.

L'**IRCA 209** a lui aussi été bien échantillonné puisque 20 individus du jardin à bois de collection ont été analysés. Tous présentent le même génotype conforme à notre témoin de l'IDEFOR, département plantes à latex .

Le **PB 280**, étudié pour 7 individus parmi lesquels 3 n'ont pas présenté d'activité enzymatique, a prouvé, grâce au 4 autres individus sa conformité par rapport à notre témoin de Malaisie.

Quant à l'**IRCA 122**, analysé sur 7 individus, 1 seul n'a pas présenté une activité enzymatique suffisante. Les 6 autres se partagent en deux génotypes. Trois individus sont conformes à l'IRCA 122 de Bimbresso (N° 177, 228, 231) tandis que les trois autres ne sont pas conformes à l'IRCA 122 ( N° 176, 229, 230). Il apparaît donc que ce clone contient des impuretés, vraisemblablement en assez grand nombre, et donc que le JB C ne peut être utilisé comme source de bois de greffe pour ce clone.

Il en est de même pour le clone **IRCA 109** qui présente 3 individus au génotype conforme et un individu au génotype non conforme.

Le cas de l'**IRCA 130** est quelque peu différent puisque sur deux individus analysés, un seul a montré un profil interprétable qui s'avère n'être pas conforme à l'**IRCA 130** de Bimbresso.

Pour l'**IRCA 230**, analysé pour 4 individus, ce clone est homogène c'est à dire que les 4 individus possèdent le même génotype, mais nous ne possédons pas de références de l'**IRCA Côte d'Ivoire**. Nous ne pouvons donc pas conclure quant à son identité.

Les clones suivants, bien que faiblement échantillonnés (1 à 5 individus par clone) se sont avérés conformes à nos références. Il s'agit du :

**PB 324, 330, 311, 312, 255, 5/51, 28/59, 217,**

**BPM 24,**

**IRCA 202,**

**RRIM 703, RRIM 600,**

**RRIC 121,**

**AVROS 2037,**

Il est bien entendu que, vu le faible échantillonnage de ces clones, nous ne pouvons conclure quant à leur homogénéité.

Les clones **RRIM 712, RRIC 110 et RRIC 100**, analysés pour deux ou trois individus chacun, n'ont montré aucune activité enzymatique, et faute de temps, les manipulations n'ont pu être répétées.

#### **IV. CONCLUSION**

Nous pouvons résumés tous les résultats obtenus au cours de cette mission de la façon suivante :

##### **CLONES HETEROGENES**

PR 261 : 3 génotypes révélés

- Phénotype "tronc rugueux"

- \* 1<sup>er</sup> génotype conforme AF 261 mais différent du PR 261

- \* 2<sup>nd</sup> génotype non conforme AF 261, non conforme PR 261

- Phénotype "tronc lisse"

- \* 1 génotype non conforme AF 261 non conforme PR 261

IRCA 109 : 2 génotypes

dont 1 conforme à l'IRCA 109 JB Bimbresso

IRCA 122 : 2 génotypes

dont 1 conforme à l'IRCA 122 Serre Montpellier

##### **CLONES HOMOGENES MAIS NON CONFORMES**

IRCA 130 : non conforme JB Bimbresso

##### **CLONES CONFORMES**

IRCA 202, 209

AVROS 2037

BPM 24

GT1

PB 217, 254, 255, 28/59, 310, 311, 312, 324, 330, 5/51

RRIC 121

RRIM 600, 703



## **CLONES SANS REFERENCE CONNUE**

IRCA 230

## **CLONES SANS RESULTATS**

RRIC 100, 110, RRIM 712

26 clones analysés dont 3 sans résultats, 30 géotypes révélés.

## **V. COUT**

Une mission "standard" dure 26 jours qui peuvent se décomposer de la façon suivante : 2 jours de voyages, 3 jours d'installations du laboratoire, et 15 jours de manipulations proprement dites. Elle permet d'analyser 350 individus.

Le financement nécessaire est le suivant :

Produits chimiques	4 000 F
Petit matériel jetable	1 000 F
Amortissement matériel	5 000 F
Supplément salaire	10 000 F
Salaire + Charges	16 000 F
Billet d'avion	15 000 F
Supplément bagages	6 000 F
TOTAL	57 000 F

Ce qui nous amène à un prix de revient de 163 F par individu analysé.

Grâce au bon déroulement de cette mission, nous sommes à présent en mesure de proposer à toute plantation les services de l'unité mobile, dans les conditions définies : 26 jours, 350 individus identifiés, pour 57 000 Francs.

Une mission est d'ores et déjà prévue en Avril 1992, dans une plantation d'Indonésie (Sembawa).



## **TABLEAU RECAPITULATIF**



CLONE	N°	ORIGINE	ACTIVITE	RESULTAT
PB 310	1	JB C	BONNE	CONFORME
	2			
	3			
	4			
	5			
	6			
	7			
PB 254	8	JB C	BONNE	CONFORME
	9			
	10			
	11			
	12			
	13			
	14			
	15			
	16			
	17			
	18			
	19			
	20			
	21		NULLE	-----
	22		BONNE	CONFORME
	23			
	24		FAIBLE	
	25		BONNE	
	26			
PR 261	27	JB C	BONNE	CONFORME AF 261
	28		FAIBLE	
	29		BONNE	
	30			
	31		FAIBLE	
	32		BONNE	
	33			
	34		FAIBLE	



CLONE	N°	ORIGINE	ACTIVITE	RESULTAT
PR 261	35	JB C	FAIBLE	CONFORME AF 261
	36		BONNE	
	37		FAIBLE	
	38			
	39			
	40		BONNE	
	41		FAIBLE	
	42			
GT 1	43	JB	NULLE	-----
	44		BONNE	CONFORME
	45		FAIBLE	
	46		NULLE	-----
	47		BONNE	CONFORME
	48		NULLE	-----
	49		BONNE	CONFORME
	50		FAIBLE	
	51		BONNE	
	522		NULLE	-----
	XXXXX		BONNE	CONFORME
	PR 261		XXXXX	JB
L		ADULTE	BONNE	PHENOTYPE "TRONC LISSE" NON CONFORME AF 261 NON CONFORME PR 261
L		ADULTE		
L		ADULTE		
L		ADULTE		
L		ADULTE		
L		ADULTE		
L		ADULTE		
R		ADULTE	BONNE	PHENOTYPE "TRONC RUGUEUX" CONFORME AF 261
R		ADULTE		
R		ADULTE		
R		ADULTE		
R		ADULTE	BONNE	PHENOTYPE "TRONC RUGUEUX" NON CONFORME AF 261 NON CONFORME PR 261
GT1		XXXXX	ADULTE	BONNE

CLONE	N°	ORIGINE	ACTIVITE	RESULTAT
GT1	XXXXX	ADULTE	BONNE	CONFORME
	XXXXX	ADULTE		
	XXXXX	ADULTE	NULLE	-----
	XXXXX	ADULTE	BONNE	CONFORME
	XXXXX	ADULTE		
	XXXXX	ADULTE		
	XXXXX	ADULTE		
	XXXXX	ADULTE		
	XXXXX	ADULTE		
	XXXXX	GRAINE		
	XXXXX	ADULTE		
PR 261	79	JB C	BONNE	CONFORME AF 261
	80			
	81		FAIBLE	
	82		BONNE	
	83		FAIBLE	
	84		BONNE	
	85			
	86			
	87			
	88			
	89		FAIBLE	
	92		BONNE	
	91			
	92		FAIBLE	
	93			
	94			
	95			
	96		BONNE	
	97			
	98			
	99			
	100		FAIBLE	PHENOTYPE "TRONC LISSE" NON CONFORME AF 261 NON CONFORME PR 261

CLONE	N°	ORIGINE	ACTIVITE	RESULTAT
PR 261	101	JB C	BONNE	CONFORME AF 261
	102		FAIBLE	
	103			
	104			
PB 310	105	JB C	BONNE	CONFORME
	106			
PB 280	107	JB C	NULLE	-----
	108		BONNE	CONFORME
PB 254	109	JB C	BONNE	CONFORME
	110			
IRCA 209	111	JB C	BONNE	CONFORME
	112			
IRCA 130	113	JB C	NULLE	-----
	114		BONNE	NON CONFORME
IRCA 109	115	JB C	BONNE	CONFORME
	116			
IRCA 230	117	JB C	BONNE	GENOTYPE NON REPERTORIE
	118			
PB 324	119	JB C	BONNE	CONFORME
	120		FAIBLE	
PB 330	121	JB C	BONNE	CONFORME
	122		NULLE	-----
PB 311	123	JB C	BONNE	CONFORME
	124			
BPM 24	125	JB C	NULLE	-----
	126			
PB 280	127	JB C	FAIBLE	CONFORME
	128		NULLE	-----
PB 312	129	JB C	BONNE	CONFORME
	130		NULLE	-----
PR 261	131	JB C	BONNE	CONFORME AF 261
	132			
	133			PHENOTYPE "TRONC LISSE" NON CONFORME AF 261 NON CONFORME PR 261



CLONE	N°	ORIGINE	ACTIVITE	RESULTAT
PR 261	134	JB C	BONNE	CONFORME AF 261
	135			
	136		FAIBLE	
	137			
	138		BONNE	
	139			
	140			
	141			
	142			
	143			
	143			
	144			
	145			
	146			
	147			
	148			
	149		FAIBLE	
	150		BONNE	
	151		FAIBLE	
	152		BONNE	
	153			
	154			
	155		FAIBLE	
	156			
	157		BONNE	
	158			
	159			
	160			
	161			
	162			
	163			
	164			
	165			
	166			

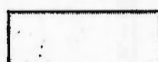
CLONE	N°	ORIGINE	ACTIVITE	RESULTAT
GT1	167	JB	NULLE	-----
	168			
	169			
	170			
	171		BONNE	CONFORME
	172			
	173			
	174			
	175			
	175			
IRCA 122	176	JB C	BONNE	NON CONFORME
	177			CONFORME
	178		NULLE	-----
RRIM 712	179	JB C	NULLE	-----
	180			
	181			
IRCA 209	182	JB C	BONNE	HOMOGENE NON REPERTORIE
	183			
	184			
IRCA 202	185	JB C	BONNE	CONFORME
	186			
	187			
GT1	188	JB	BONNE	CONFORME
RRIC 110	189	JB C	NULLE	-----
	190			
	191			
PB 255	192	JB C	NULLE	-----
	193		BONNE	CONFORME
	194		NULLE	-----
RRIM 703	195	JB C	BONNE	CONFORME
	196		NULLE	-----
	197			
RRIC 121	198	JB C	BONNE	CONFORME
	199		FAIBLE	
	200			NON ANALYSE

CLONE	N°	ORIGINE	ACTIVITE	RESULTAT
RRIC 100	201	JB C	NULLE	-----
BPM 24	202	JB C	BONNE	CONFORME
	203			
	204			
PB 280	205	JB C	FAIBLE	CONFORME
	206			
	207		BONNE	
PB 5/51	208	JB C	NULLE	-----
	209		BONNE	CONFORME
	210		NULLE	-----
RRIM 600	211	JB C	BONNE	CONFORME
	212			
	213			
GT 1	214	JB C	BONNE	CONFORME
	215			
	216			
	217			
	218			
	219			
AV 2037	220	JB C	BONNE	CONFORME
	221			
	222			
PB 28/59	223	JB C	BONNE	CONFORME
	224			
	225			
PB 217	226	JB C	BONNE	CONFORME
	227			
IRCA 122	228	JB C	BONNE	CONFORME
	229			NON CONFORME
	230			
	231			CONFORME
IRCA 230	232	JB C	BONNE	HOMOGENE NON REPERTORIE
	233			
IRCA 209	234	JB C	BONNE	CONFORME



CLONE	N°	ORIGINE	ACTIVITE	RESULTAT
IRCA 209	235	JB C	BONNE	CONFORME
	236			
	237			
	238			
	239			
	240			
	241			
	242			
	243			
	244			
	245			
	246			
	247			
	248		NULLE	-----
IRCA 109	249	JB C	BONNE	NON CONFORME
	250			CONFORME
PR 261	251	JB C	BONNE	CONFORME AF 261
	252			PHENOTYPE "TRONC RUGUEUX"
	253			NON CONFORME AF 261
	254			NON CONFORME PR 261
PB 310	255	JB C	BONNE	CONFORME
	256			
	257			
	258			
	259			
	260			
	261			
	262			
	263			
	264			
	265			
PB 310	266	JB C	BONNE	CONFORME
	267			
	268			

CLONE	N°	ORIGINE	ACTIVITE	RESULTAT
PB 310	269	JB C	BONNE	CONFORME
	270			
	271		FAIBLE	
	272		BONNE	
	273			
	274			



CLONE NON CONFORME

JB C JARDIN A BOIS DE COLLECTION  
JB JARDIN A BOIS DE DIFFUSION  
ADULTE PARCELLE EN EXPLOITATION  
L INDIVIDU A TRONC LISSE  
R INDIVIDU A TRONC RUGUEUX



**OERSCI**

BP 3  
34981 St GELY du FESC Cedex  
Tél. 67 64 66 20